QK1
.B389

ANNALES

DU

JARDIN BOTANIQUE

DE

BUITENZORG.

DIRIGÉES PAR

J. C. KONINGSBERGER
Directeur du Jardin

ET

CH. BERNARD
Docteur ès Sciences.

(Volume XXX).
DEUXIÈME SÉRIE.
VOLUME XV.
1e PARTIE, A.

P. 2. 40

LIBRAIRIE ET IMPRIMERIE
CI-DEVANT
E. J. BRILL
LEIDE — 1916.

417

SUR LE DÉVELOPPEMENT DES CELLULES GÉNÉRATRICES DE CAMELLIA THEIFERA (GRIFF.) DYER

PAR

C. P. COHEN STUART.

(Avec planches I—III).

---

§ 1. Introduction.

Dans les dernières années, la littérature traitant des recherches expérimentales de génétique, et surtout de celles qui ont été faites en visant l'amélioration des végétaux, se montre de plus en plus préoccupée des questions d'écologie et de cytologie, qui sont en effet fondamentales pour une sélection réelle et rationnelle; on ne saurait écarter ces questions d'écologie et de cytologie du moment qu'on s'occupe de fécondation et de croisement artificiel sans risquer de se voir un jour trompé sur la valeur des recherches et des méthodes employées. C'est ainsi que déjà toute une littérature de cytologie et d'écologie appliquées s'est formée. Quant à la première, pour en démontrer la grande importance pour le développement de la génétique, il suffit de mentionner la découverte de la double fécondation par Guignard et Nawaschine, qui fut pour de Vries l'explication des xénies de ses cultures, ce qui donna à son tour le branle à toute cette évolution glorieuse de la génétique comme nous la voyons aujourd'hui. Cette dernière science, quoique plus jeune, s'est déja rendue indispensable, comme le montre l'admirable livre de Fruwirth, „Die Züchtung der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen"; et c'est en m'acquittant d'un devoir de reconnaissance que je fais ici une mention spéciale du travail

de M. VON FABER, paru dans ces Annales-ci [1]), qui traite l'écologie et la cytologie du caféier, et qui m'a servi de modèle dans plusieurs cas.

M. BERNARD, en entreprenant la sélection du thé, a reconnu la nécessité de recherches préliminaires, qui, outre les études morphologiques et statistiques, comprendraient l'écologie et la cytologie de cette plante importante. Les résultats de mes recherches plus générales paraissent ailleurs [2]), de même que mes expériences sur la fleur du théier; ici, je ne rendrai compte que du développement des organes réproducteurs et de l'embryon.

C'est à l'amabilité de Mad. A. SIRKS-JOUSTRA que je dois la traduction de cette partie ci, tandis que M. le Dr. QUARLES VAN UFFORD eut l'obligeance de faire la correcture des épreuves.

§ 2. BIBLIOGRAPHIE.

Sur la cytologie de *Camellia theifera* il n'existe que la publication de M. CAVARA [3]). Cet auteur ne s'est pas occupé, cependant, de la cytologie dans le sens histologique que l'on attache ordinairement à ce mot; la meilleure preuve en est l'abondant emploi d'eau de Javelle dont l'auteur s'est servi pour éliminer le contenu des cellules „fortemente granulare ed „impregnato di sostanze che lo colorano in giallo bruno" (p. 285). Je ne comprends pas de quelles substances il s'agit, car moi-même je n'ai jamais éprouvé les moindres difficultés de ce genre; seulement le développement de l'embryon n'était pas très clair dans les préparations. Il est possible que les circonstances sous lesquelles le thé croît à Pavie aient causé l'effet mentionné. Quoi qu'il en soit, on comprendra qu'un réactif comme l'eau de Javelle empêche de rien voir des phases les plus intéressantes du développement du sac embryonnaire, c'est à dire, des divisions allotypiques. Il n'y a que le sac

---

1) F. C. VON FABER, Morphologisch-physiologische Untersuchungen an Blüten von *Coffea*-Arten. — Ann. d. Jard. Bot. d. Buitzg. XXV (1911), p. 59.

2) Mededeelingen van het Proefstation voor Thee, No. XL, »Voorbereidende onderzoekingen ten dienste van de selektie der theeplant."

3) F. CAVARA, Ricerche intorno allo sviluppo del frutto della *Thea chinenssi* SIMS. — Atti dell'Istituto bot. dell'Univ. di Pavia II. 5 (1899), p. 289.

embryonnaire adulte et la fécondation qui aient été étudiés exactement dans l'examen de M. Cavara. Le développement de l'embryon est ajouté au texte dans une très belle série d'images, bien plus complète que je ne l'ai pu obtenir, il y en a une p. e. qui représente un cas très instructif de polyembryonie. L'auteur donne une description détaillée des téguments séminaux et enfin de la germination.

Ainsi, ce travail est au fond d'un caractère morphologique, qui ne fait pas assez ressortir les questions purement cytologiques. L'important problème de la stérilité n'est point abordé, et sur la question du développement du pollen nous n'obtenons point d'information. Voilà bien des raisons pour reprendre les recherches de M. Cavara depuis le commencement.

Récemment, M. Buschmann [1]) a publié quelques observations sur l'embryogénie du thé, mais, faute de matériaux pour ses recherches, il ne décrit que l'anatomie d'embryons déjà très avancés; chose très intéressante, mais qui n'est pas de la cytologie non plus.

§ 3. Méthode.

Ayant observé que les individus d'une plantation de thé se comportent très différemment à l'égard du nombre de fleurs des inflorescences, du nombre de fruits qui mûrissent par noeud, de la proportion de fleurs stériles et de boutons qui tombent sans être éclos, de la proportion enfin de pollen fertile, j'ai jugé nécessaire de traiter chaque arbre („race") individuellement pour la cytologie comme pour l'écologie, et de faire les études microscopiques sur les mêmes plantes dont j'avais rassemblé des observations macroscopiques. Principalement, j'ai obtenu les matières pour mes recherches de la „race" n° 1; puis, les stades intéressants de la race stérile n° 2, de la race fertile n° 24, et d'une plante de thé de Chine, qui se trouve dans le „Cultuurtuin" à Buitenzorg.

Dans ma publication générale, j'ai montré les résultats de

---

1) E. Buschmann, Zur Untersuchung der Entwicklungsgeschichte von *Thea chinensis* Sims. — Arch. d. Pharmazie CCLII (1914), p. 412.

mes mensurations de boutons et de jeune fruits de la race 1; ces mensurations avaient pour but en partie de faciliter l'examen cytologique, parce que les boutons et les fruits du même diamètre (5—6, 6—7 mm., etc.) étaient fixés ensemble, et après le premier examen cytologique on pouvait constater avec certitude quels stades manquaient encore; en plus, on pouvait en conclure jusqu'à quelle phase de développement intérieure les fleurs en observation écologique étaient arrivées. Cette méthode de fixer à l'aide de mensurations, empruntée à la dissertation de M. GEERTS [1]), m'a rendu de grands services.

Le fixage se faisait dans les liquides de CARNOY, JUEL, KAISER et FLEMMING, dont voici les dosages:

CARNOY: alcool fort (95°/$_0$) 600 cc., chloroforme 300 cc., acide acétique glacial 100 cc.

JUEL: alcool 50°/$_0$ 1000 cc., acide acétique glacial 20 cc., chlorure de zinc 20 gr.

KAISER [2]): eau distillée 100 cc., acide acétique glacial 1 cc. sublimé corrosif 5 gr. (avec un bain de lavage de iode dissous dans de l'alcool 70°/$_0$).

FLEMMING [3]): eau distillée 95 cc., acide acétique glacial 5 cc., acide chromique 0.75 gr., acide osmique 0.4 gr.

Le liquide de CARNOY donnait de bonnes préparations après une coloration par le procédé d'hématoxyline et l'alun ferri-ammoniacal d'après HEIDENHAIN; de même les liquides de JUEL et de KAISER. La différentiation des chromosomes était pourtant bien plus satisfaisante dans les dernières; la première rendait de bons services pour obtenir un aperçu général. La solution de FLEMMING, suivie d'une triple coloration (safranine, violet de gentiane, orange) n'était employée que pour contrôler les autres méthodes. Pour le fixage des fruits, le liquide de FLEMMING donnait des résultats bien inférieurs à ceux de JUEL et

---

1) J. M. GEERTS, Beiträge zur Kenntnis der Cytologie und der partiellen Sterilität von Oenothera Lamarckiana. — Recueil d. trav. bot. néerl. V (1909), p. 1.

2) E. STRASBURGER (4me éd.) 1902, p. 56. J'ai remplacé le dosage du sublimé d'après KAISER (3°/$_0$) par une concentration plus forte.

3) E. STRASBURGER (4me éd.) 1902, p. 56.

Kaiser, qui conservaient les tissus à merveille; quant à la solution de Carnoy, elle était absolument inutilisable ici, à cause de la forte contraction des tissus endospermiques.

Les objets passaient comme d'ordinaire par la série des alcools et par le chloroforme, puis dans la paraffine de 45° et de 56—58°, et étaient coupés à l'aide d'un microtome d'après Jung-Zimmermann. Pour la plupart des préparations, 7.5 μ était (en rapport avec la température de l'air) l'épaisseur la plus usitée; pour les embryons, 15 μ se montrait l'épaisseur la plus satisfaisante.

Au commencement, un obstacle sérieux s'opposait à la coupe des ovaires: les tissus se déchiraient sous le couteau, aussitôt que celui-ci touchait à la région des ovules. Ce n'est qu'après maintes tentatives (d'abord je pensais que c'étaient des idioblastes dans les tissus qui formaient obstacle) que je suis arrivé à la conclusion que les poils, qui revêtent une grande partie de l'ovaire, faisaient échouer mes efforts pour couper les ovaires. Alors, j'ai adopté la méthode suivante: en fixant l'ovaire, je le découpais transversalement à l'endroit où la cavité intérieure commence, de façon que les ovules se montraient; alors, je rabotais légèrement (avec un couteau pas trop aigu) les parois extérieures de l'ovaire afin d'écarter l'epiderme. Enfin, puisque des poils restaient çà et là, je traitais l'objet déjà fixé sur le microtome, de la manière suivante:

Le couteau se mouvant dans la direction des flèches, je découpais la face antérieure du bloc de paraffine suivant la ligne a—b et la remplaçais par quelques gouttes de paraffine de 45°. Les objets préparés ainsi donnaient d'excellentes préparations.

Il est bien entendu que ces précautions n'étaient necessaires que pour les boutons de plus de 5 m.m. de diamètre et pour les ovaires adultes.

Je ne puis comprendre que M. Cavara, qui a fait usage d'un microtome, lui aussi, n'ait jamais eu cette difficulté, laquelle parfois prouve être un obstacle tellement grand, quand il s'agit d'ovaires encore plus minces et plus velus, comme ceux de *Camellia lanceolata* et *Camellia Sasanqua*, qu'on doit presque renoncer à les couper au microtome. Et pourtant, M. Cavara décrit ces poils et les dessine. C'est encore une incongruence entre son travail et le mien que je ne saurais expliquer.

J'ai fait usage de la machine pneumatique autant que possible pour l'injection des liquides employés pour la fixation. Je faisais les dessins toujours à l'aide de la chambre claire d'après Abbe, pendant que le tube gardait sa longueur normale. Je me suis servi de cinq combinaisons c. à d. oculaire 2 avec les objectifs A, D, F et immersion apochromatique homogène, distance focale 2 m.m., 1.30 n. ap. et l'objectif nommé en dernier lieu avec l'oculaire 5; tous sont des „Zeiss".

La première combinaison a servi dans les dessins suivants: A, B, C, D [1]). La deuxième (2 avec D) dans les figures: Pl. III 29, 31, 32, 33, 42. La troisième (2 avec F) dans les figures de Pl. II: 21—28. La quatrième (2 avec immersion) dans les dessins de Pl. II: 18, 19, 20; Pl. III: 35, 36, 37. La cinquième (5 avec immersion) dans les dessins de Pl. I: 1—17.

Comme le degré d'agrandissement a été changé pourtant à cause de l'emploi de l'appareil à dessiner et par la reproduction, je ne l'ai pas mentionné ici, mais j'ai projété à côté de chaque figure une partie d'un micromètre avec des intervalles de 10 μ. Chaque division de l'échelle représente donc 50 μ.

§ 4. Développement de la fleur.

Je renonce à traiter ce sujet en détails, vu que J.-B. Payer [2]) et M. Cavara l'ont fait avant moi; ce dernier a publié une belle série de reproductions. Afin de compléter mon article j'ajoute ici dans le texte deux figures de coupes longitudinales

---

1) Reduits à $\frac{1}{3}$ dans le texte.

2) J.-B. Payer, Traité d'organogénie comparée de la fleur. — Paris 1857.

des boutons de 2—3 m.m. resp. de 3—4 m.m. de diamètre. Dans la première figure (A) on voit que la cavité ovarienne n'est

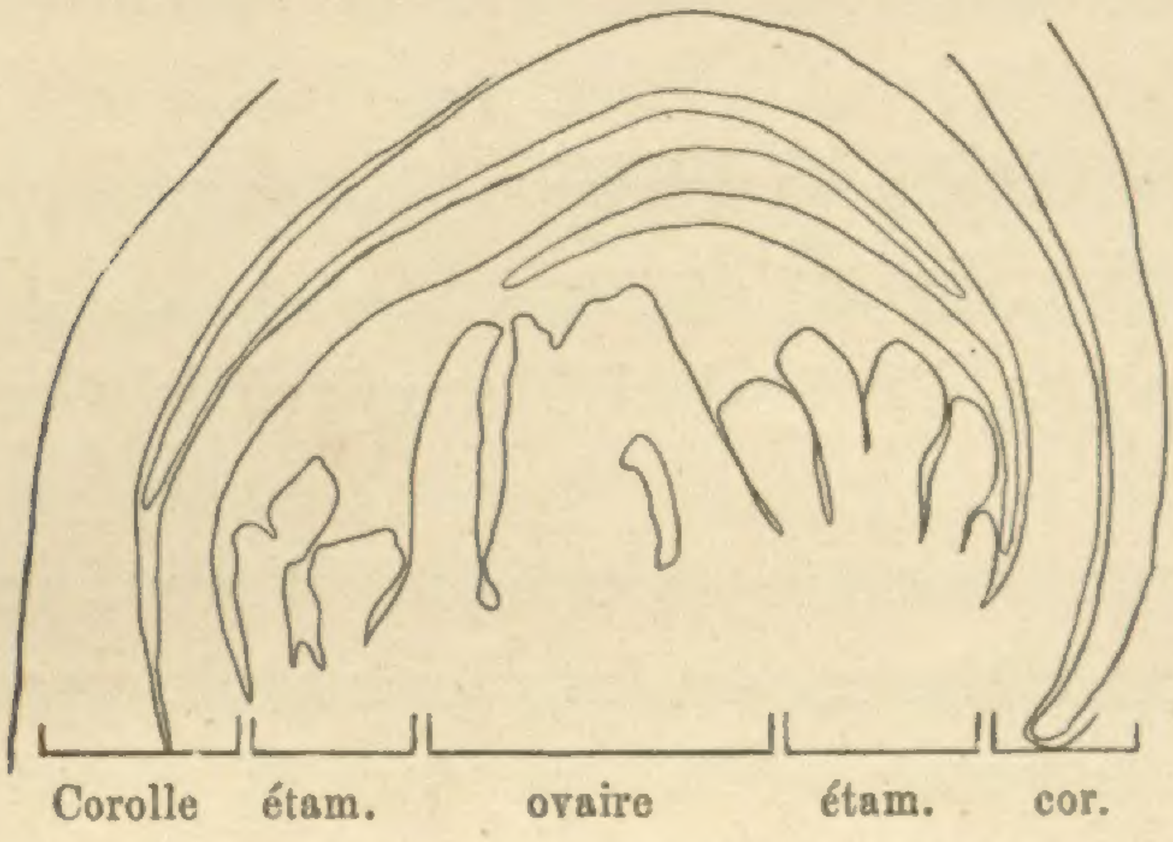


Fig. A. Coupe longitudinale d'un bouton de 2—3 m.m. de diamètre.

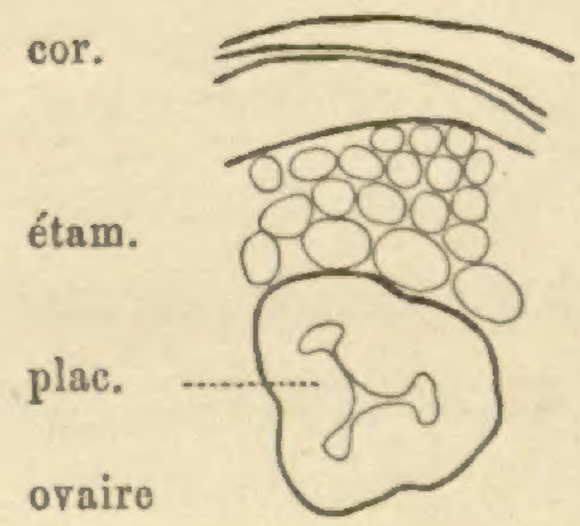


Fig. C. Coupe transversale d'un boutou de 2—3 m.m. de diamètre.

Fig. B. Coupe longitudinale d'un bouton de 3—4 m.m. de diamètre.

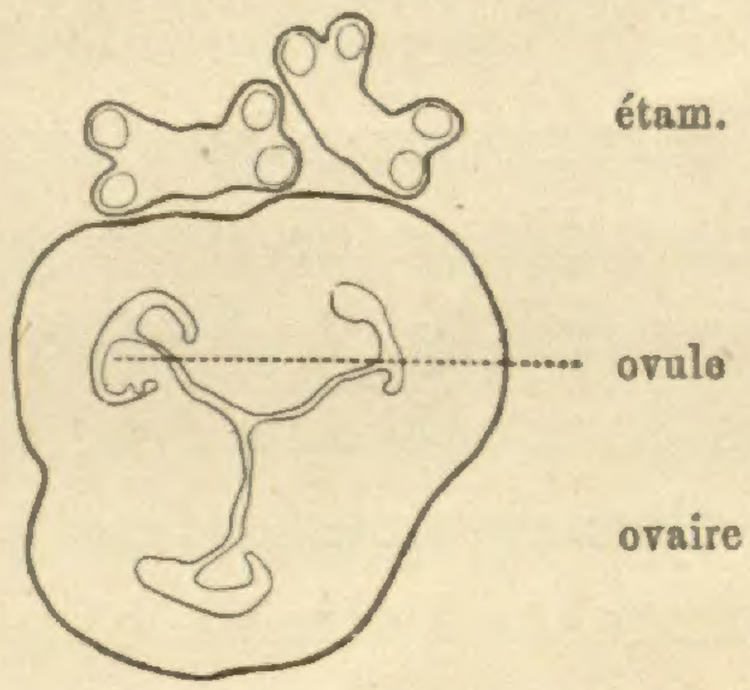


Fig. D. Coupe transversale d'un bouton de 3—4 m.m. de diamètre.

pas encore fermée, et que le style ne s'est pas encore différentié; dans la seconde figure (B) on voit qu'une cloison s'est formée, que la différentiation s'est établie et que dans la cavité ovarienne se trouve une ovule ayant déja deux intéguments, tandis que la figure précédente montre un placenta encore non différentié.

Sur la coupe transversale d'un bouton de 2—3 m.m. on retrouve ces placenta. Ici on peut distinctement voir (fig. C) comment ils se forment des bords repliés des trois carpelles dont la concrescence se fait plus tard. Dans les boutons de 3—4 m.m. on voit comment les ovules se développent peu à peu (fig. D). La différentiation des téguments a lieu aussi dans cette phase.

Les étamines des boutons de 2—3 m.m. se trouvent à l'état

non différentié (fig. A et C). Dans les boutons de 3—4 m.m. elles ont déjà une forme aplatie et quatre sacs polliniques bien développés (fig. B et fig. D).

§ 5. Développement du pollen.

(Planche I, fig. 1—17 [1])).

Ce développement n'offre pas d'irrégularité comparé à celui des autres plantes.

Dans les boutons, ayant un diamètre de moins de 4 m.m., on trouve les cellules génératrices mâles encore dans la phase de repos (fig. 1, cellule mère). Tout le procès se fait pendant la période de 4—5 m.m. Dans le noyau naît une structure filamenteuse (fig. 2), qui s'accumule de plus en plus dans un coin du noyau (fig. 3, synapsis), puis cette masse redevient moins compacte et forme une pelote de gros fils (fig. 4, spiréma) qui tombe en plusieurs pièces (fig. 5 et fig. 6). Ces morceaux qui représentent des chromosomes bivalents et qui le plus souvent sont distinctement divisés en deux parties, se dispersent maintenant dans le noyau (fig. 7, diacinèse) et l'on peut alors fixer (constaté dans deux cas) que leur nombre est de 15. Le nombre diploïde des chromosomes se monte donc pour le théier à 30 [2]). Après la phase de diacinèse commence la première division réductionnelle (fig. 8, métaphase de la division hétérotypique) où le nucléole a disparu. On ne peut pas non plus voir le nucléole quand les jeunes noyaux se sont formés (fig. 9, télophase); il se montre de nouveau dans les jeunes noyaux en état de repos (fig. 10, dyades). La membrane cellulaire ne se forme pas dans cette phase, bien qu'on puisse distinguer dans le protoplasme une démarcation. Tous les groupes de deux cellules se dédoublent de nouveau (fig. 11, métaphase de la division homéotypique; fig. 12, télophase; le protoplasme s'est fortement contracté). Les quatre jeunes noyaux se trouvent d'abord libres dans le protoplasme (fig. 13) et ce n'est qu'au bout d'un certain temps

---

1) L'échelle à côté de la fig. 1 se rapporte à toutes les figures 1—17.

2) Je n'ai pas fait des calculs directs du nombre végétatif; je me suis contenté de constater que c'était plus de 20.

qu'il s'entourent d'une membrane; ainsi se forment quatre cellules dans la cellule mère (fig. 14, tétrades). La membrane extérieure se fend et les jeunes grains de pollen se trouvent libres dans la cavité du sac pollinique. Il croissent considérablement; tandis que leur diamètre est d'abord de 10 μ, celui du grain mûr est de 40—50 μ (fig. 15). Je n'ai pu, malheureusement, me servir de la matière fixée pour constater ce fait, par suite de la forte contraction des pores, qui change la forme tétraédrique en une forme sphérique très irrégulière. Aussi le grain de pollen représenté ici a été pris sur une plante vivante du jardin botanique d'Utrecht, mais par des mensurations du pollen fixé j'ai pu constater que les dimensions en étaient à peu près égales: à mon grand regret je n'ai pu observer comment se fait la division du noyau de pollen primitif: je n'avais pas fixé de pollen germant et j'ai essayé vainement de faire germer le pollen de l'exemplaire du jardin botanique.

Des coupes longitudinales de boutons dans les phases les plus propres à cet effet (4—5 m.m.) fournirent des images très instructives, puisque en parcourant une anthère d'en bas jusqu'en haut on rencontre graduellement des phases de développement de plus en plus jeunes, de sorte que tout comme l'a constaté M. D'ANGREMOND pour la banane [1]) on trouve tout près l'un de l'autre les différentes phases de division.

On ne saurait constater avec certitude des *irrégularités* dans le développement que dans la phase des tétrades; car parfois on trouve dans ce stade sur quatre noyaux un à trois en voie de dégéneration (fig. 16). Dans le pollen déjà libre on rencontre par ci, par là aussi des grains anormaux avec un noyau noir (fig. 17).

Le pourcentage de ces grains cependant ne répond nullement au nombre des grains de pollen qui ne germent pas, de sorte que je pense qu'une partie du reste est aussi anormal, mais il n'est pas possible de les indiquer dans la matière fixée.

---

1) A. D'ANGREMOND, Parthenokarpie und Samenbildung bei Bananen. — Flora CVII (1914), p. 77.

§ 6. Développement du sac embryonnaire, et fécondation.

(Planche I et II, fig. 18—28).

Ce procès est caractérisé pour le thèier du fait que le sac embryonnaire naît par trois divisions successives, non pas d'une seule cellule de tétrade, mais de la cellule mère elle-même. Il ne se forme donc pas de de tétrades, mais les noyaux macrosporiques restent renfermées dans une cellule, comme c'est le cas pour les microspores. *Le nombre définitif des noyaux est presque toujours huit, donc entièrement régulier.* Ce développement se fait dans les boutons de 4 à 5 ou 5.5 m.m. de diamètre et est presque toujours postérieur à celui du pollen. Entre la phase de 5 m.m. et la fertilisation le jeune sac embryonnaire s'agrandit et le tissu nucellaire a été écrasé.

La cellule mère primordiale (fig. 18) se différentie d'une cellule sous-épidermique et n'est separée de l'épiderme le plus souvent que par deux assises cellulaires. Un tapetum ne se forme pas; le sac embryonnaire n'est couvert que d'une seule couche de cellules épidermiques; le nucelle reste continuellement très peu visible. Le noyau primordial passe à la phase synaptique (fig. 19 et 20), qui, vu sa fréquence dans les préparations, dure évidemment assez longtemps. La diacinèse (fig. 21, trois coupes successives) et la division hétérotypique (fig. 22, deux coupes) sont beaucoup plus rares; la première d'une manière, toute analogue à ce que nous avons vu pour le pollen, montre 15 groupes de deux. La première division réductionnelle mène à la phase des dyades (fig. 23) qui dure assez longtemps, tout comme la phase des tétrades (fig. 24: le quatrième noyau se trouve dans la coupe suivante, qui n'a pas été dessinée). La phase entre ces deux, c. à d. la division homéotypique, je ne l'ai pu trouver et par conséquent je suppose qu'elle dure très peu de temps.

Comme je l'ai dit, il n'y a pas, dans les deux divisions reductionnelles, une trace de formations de membrane cellulaire, pour autant que je sache. Très peu de temps cependant après

que la 3ième division s'est faite, dont les noyaux de tétrades réproduits dans la fig. 25 montrent peut-être la prophase, doit commencer la formation des membranes cellulaires autour des huit noyaux, dont nous avons suivi le développement. Dans la fig. 26 j'ai reproduit un très jeune sac embryonnaire, réparti sur trois coupes; on peut nettement distinguer les synergides, l'oosphère et deux noyaux polaires, mais je ne saurais expliquer la masse cellulaire au bout antipodal du sac embryonnaire. Dans la majorité des cas on trouve distinctement trois cellules antipodiales (fig. 28, une des cellules se trouve dans la coupe suivante) selon la règle. Ici cependant sont réunies bien 10 ou 11 cellules, qui, par la densité de leur protoplasme, la forte coloration de leur nucléole, et aussi parce que toutes, elles se détachent ensemble de la paroi du nucelle, prouvent faire partie du sac embryonnaire et ne pas être p. e. originaires du nucelle.

Ces cellules ont plus ou moins l'aspect d'un „appareil-suçoir" qu'on a bien rencontré dans d'autres plantes et auquel on a voulu attribuer des fonctions spéciales nutritives. Si c'était le cas ici, on pourrait s'attendre à le trouver régulièrement chez tous les sacs embryonnaires, mais ce n'est pas du tout le cas. J'ai bien rencontré plusieurs fois des cas où je comptais plus de trois noyaux p. e. 11 ou 12, jusqu'à 17, et ces noyaux superflus semblaient devoir faire partie le plus souvent de la partie basale du sac embryonnaire; mais souvent il était fort difficile de décider si, en coupant, je ne les avait pas arrachés tous ou une partie du moins au nucelle, et si je n'avais pas coupé en deux des noyaux. Aussi je crois donc seulement avoir le droit de conclure qu'il y a une tendance à former un plus grand nombre de noyaux; que cette surabondance pourra être un symptôme d'anormalité, c. à. d. que de pareils sacs embryonnaires ne pourront se développer normalement. Une préparation comme la reproduction en montre une, est à mon avis une preuve certaine que de pareils sacs embryonnaires à plusieurs noyaux existent réellement.

Le sac embryonnaire s'agrandit encore sensiblement. Les synergides et les noyaux polaires aussi deviennent très grands

et sautent aux yeux par le gros nucléole à côté de l'oosphère qui reste petit (fig. 27 syn. = synergide, ov. = oosphère). Les antipodes (fig. 28) sont enveloppés du tissu nucellaire. Le sac embryonnaire qui grossit fortement aplatit de plus en plus le nucelle contre les téguments, et ce n'est qu'en haut et en bas du sac embryonnaire qu'il se montre comme une coiffe noire (en haut, fig. 26) ou comme une tige cupulaire (en bas). Par là le sac embryonnaire touche au tégument intérieur et à première vue on prendrait celui là pour le nucelle. Pour suivre tout le procès de la fécondation j'ai fixé des ovaires, respectivement 5, 7, 8, 9, 10, 11, 17, 18, 19, 20, 21, 27 et 28 jours après l'éclosion des fleurs [1]). Vu que la croissance de l'ovaire ne devient visible qu'un grand mois après l'éclosion, je pus m'attendre à trouver dans les exemplaires fixés les phases les plus intéressantes. Au premier examen des préparations je crus découvrir des tubes polliniques pénétrants dans les ovaires fixés après 9—11 jours. Un examen minutieux de toute la série me fit voir que je m'étais trompé. Une préparation seulement d'un ovaire fixé 17—19 jours après la pollinisation me sembla montrer la fécondation; mais d'une manière tellement irrégulière que je préfère reprendre l'examen pour chercher spécialement la solution de ce problème; jusque là je dois constater à mon grand regret que je n'ai pas réussi à trouver dans mes préparations des exemples de fécondation.

D'autres données aussi sur le procès de la fécondation étaient fort difficiles à trouver. Il y avait bien un assez grand nombre de cas que j'ai pris d'abord pour ce procès, mais dans ces cas (aussi bien quand la fixation avait eu lieu au moyen du liquide de Juel ou de celui de Kaiser, que quand je l'avais effectuée au moyen de la méthode de Flemming suivie de la décoloration par $H_2 O_2$) l'appareil sexuel était enveloppé de masses de protoplasme tellement noires et opaques (probablement dues au protoplasme du pollen) qu'il me fut impossible de constater ce

---

1) C. à d. 3, 5, 6 etc. jours après la chute des fleurs, et 3—5, 5—7, 6—8 etc. jours après la pollinisation. Je n'ai pas effectué artificiellement cette pollinisation.

qui se passait à l'interieur de l'appareil. *Je n'ai pas pu constater la fusion de deux noyaux, ce qu'a, cependant, bien fait M.* Cavara. Je n'ai pu constater la fécondation qu'indirectement, à savoir par le fait que les cellules de l'albumen se divisaient: on sera de mon avis quand je dis que ce n'est pas là une preuve rigoureuse de la fécondation et de l'absence de parthénogénèse (dans le sens du mot qu'y prête M. Winkler). Je n'ai pas même réussi à constater la présence de tubes polliniques. J'ai bien pu le faire dans le style, et ici même avec assez de certitude au bout de 5 jours. Du reste le style meurt quelques jours plus tard. Les tubes polliniques sont visibles dans le canal stylaire sous forme d'une masse noire entourée d'un tissu conducteur mourant, et ce dernier phénomène surtout est caractéristique. Mais il est très rare que j'aie pu démontrer le tube pollinique dans le micropyle. Et là où j'ai réussi je ne suis pas tout à fait sûr que ce n'est pas quelque chose d'artificiel. J'ai essayé et encore vainement, de démontrer dans des coupes de l'ovaire vivant, les tubes polliniques, au moyen de diverses matières colorantes.

Irrégularités. Je mentionnerai les irrégularités, c. à d. des cellules mères doubles et triples, des cas anormaux de dyades, de tétrades et de sacs embryonnaires sous le § 8.

§ 7. Développement de l'embryon.

(Planche II et III, fig. 29—34).

Le point caractéristique est ici, la longue période de repos de l'oosphère fécondé, et le très fort développement d'un albumen succulent formé de cellules très grandes, qui sera entièrement repoussé plus tard par l'embryon.

Le noyau secondaire du sac embryonnaire commence à se diviser rapidement 3—4 semaines après la pollinisation et remplit le sac d'un tissu parenchymatique qui se contracte facilement sous l'influence de liquides fixatifs et qui, quand on coupe une graine pas encore mûre, laisse échapper son suc cellulaire, sous une pression très légère; c'est une masse pâteuse sans aucune consistance. Pendant longtemps on ne peut rien distinguer

d'un embryon. Selon M. Cavara (à Pavie) l'oosphère fécondé ne commence à se diviser qu'au bout de 2—8 mois, et j'ai pu constater qu'à l'île de Java c'est la même chose. La supposition de M. Cavara que cette longue période de repos serait en rapport avec le froid de l'hiver que la plante doit subir en Italie, se trouve donc être non fondée, et il est bien curieux de relever ici cette indépendance totale du climat dans le développement embryonnaire [1]).

M. Cavara reproduit une magnifique série de phases embryonnaires obtenues par un traitement avec de l'eau de Javelle, qui ne laisse naturellement subsister que les membranes cellulaires. J'ai appliqué exclusivement des méthodes cytologiques et j'en ai obtenu des résultats beaucoup moins satisfaisants, surtout dans les premières phases; car alors les restes des masses noires de protoplasme du tube pollinique couvrent encore l'appareil sexuel, et bien qu'on trouve beaucoup de structures qui ressemblent à un tissu cellulaire, il est pourtant bien difficile dans le plus grand nombre de cas de distinguer si elles font partie de l'embryon ou de l'albumen.

Le sommet du sac embryonnaire (fig. 29) doit renfermer une zygote, mais celle-ci est invisible. Dans la fig. 30 on peut voir la petite place qu'occupe l'appareil sexuel dans le sac embryonnaire, et l'on peut voir en même temps, combien a poussé l'albumen; le nucelle a disparu depuis longtemps et les antipodes aussi sont pressées contre la chalaze. Le tégument extérieur se fait maintenant toujours plus épais et plus dur, tandis que le tégument intérieur reste en arrière et se désorganise peu à peu.

---

1) On sait que l'ontogénie des fleurs de *Dasylirion* à Utrecht prouvait être différente de celle des fleurs à Tübingue et que celle des *Diospyros* dans l'Amérique septentrionale était différente de celle des mêmes fleurs en Italie. — Voir pour le premier cas, F. A. F. C. Went et A. H. Blaauw, A case of apogamy with *Dasylirion acrotrichum* Zucc. (Rec. d. trav. bot. néerl. II, 1905, p. 223), H. Winkler, Über Parthenogenesis und Apogamie im Pflanzenreiche (Progr. rei bot. II, 1908, p. 293); et, pour le second exemple: W. L. Woodburn, Development of the embryo sac and endosperm in some seedless persimmons (Bull. Torrey Bot. Club XXXVIII, 1911, p. 379), S. Hague, A morphological study of *Diospyros virginiana* (Bot. Gaz. LII, 1911, p. 34), B. Longo, La partenocarpia nel *Diospyros virginiana* L. (Rendic. R. Accad. dei Lincei, Roma, Cl. sc. fis. mat. e nat., XVIII, 1909, p. 632).

Dans les petits fruits de 8 m.m. de diamètre environ (âgés d'une demie année) on trouve les premiers symptômes d'activité dans l'extrémité du micropyle. On peut trouver alors un embryon comme on l'a vu p. e. dans la fig. 31. Celui ci est beaucoup plus gros que ne l'a dessiné M. Cavara et il ne montre pas une rangée régulière de cellules. Il y a lieu de se demander si c'est un embryon normal. La phase suivante (fig. 32) ressemble très bien aux reproductions de M. Cavara; c'est un petit corps sphérique attaché à un long suspenseur dont le commencement se trouve dans une autre coupe. Je n'ai pas observé le changement de cette sphère en un corps réniforme, pourvu de deux cotylédons naissants, comme le reproduit M. Cavara. J'ai bien trouvé deux phases plus âgées: p. e. dans la fig. 33 un grand corps pluricellulaire avec deux cotylédons bien distincts (non reproduits), un solide suspenseur et une curieuse ligne de séparation dans la partie de l'embryon qui touche au suspenseur, laquelle selon M.M. Cavara et Buschmann représente la calyptra. Ici encore le suspenseur est entouré d'une prolifération de cellules. Dans la dernière phase embryonnaire que j'ai examinée (fig. 34) les deux cotylédons se sont déjà sensiblement développés et l'on peut voir dans le tissu endospermique ambiant que les membranes cellulaires ne sont pas aplaties mais qu'évidemment, elles sont attaquées par une enzyme diastatique qui les digère. Je n'ai pu retrouver ici la calyptra; une nuance plus foncée indiqua bien l'endroit où devrait se trouver plus tard le point méristémaue detqi la racine.

Je veux attirer l'attention encore, pour ces figures mentionnées, sur la croissance du tégument extérieur. Cf. les figures 30 et 34 qui ont été dessinées sur une échelle égale.

Irrégularités. Polyembryonie: voir plus bas.

§ 8. Irrégularités. Stérilité.

(Planche III, fig. 35—44).

L'anomalie la plus frappante dans le développement du sac embryonnaire, que j'ai pu constater, est la présence de cellules

mères doubles ou triplets. Cette nature double est souvent déjà visible dans la cellule mère en repos (fig. 35), bien qu'on puisse le constater toujours avec certitude à cause de la grandeur uniforme des cellules et des noyaux dans le nucelle. Très caractéristique cependant est l'image de la figure 36, représentant un cas de synapsis double. Dans ce cas-là les cellules peuvent être superposées où bien elles se trouvent l'une à côté de l'autre; le dernier cas est le plus fréquent. Y a-t-il trois cellules mères, ce qu'on voit le mieux dans la phase de la synapsis, deux se trouvent côte à côte et la troisième sous les deux autres (fig. 37). Dans la plupart des cas ces ovules dégénèrent c. à. d. au prorata on trouve dans les ovaires âgés beaucoup moins d'irrégularités, et au contraire bien des ovules avec des cellules sexuelles mourantes (p. e. fig. 40). Mais ce n'est pas toujours le cas, loin de là, et de temps en temps on voit bien ces ovules-là se développer. Plusieurs fois j'ai trouvé l'un à côté de l'autre un cas de synapsis et une diacinèse, une seule fois aussi un cas de synapsis et un fuseau hétérotypique. On peut trouver parfois aussi des dyades ou des tétrades doubles, bien qu'il soit très difficile de les distinguer de tétrades simples ou de sacs embryonnaires à 8 noyaux. De temps en temps on constate des cas où il est possible de distinguer encore assez nettement les membranes primaires, p. e. dans la fig. 38 qui représente une dyade sous une tétrade (de la première un noyau manque, de la seconde deux, qui se trouvent dans une coupe suivante; l'ovule a été coupée obliquement). Je crois que des sacs embryonnaires doubles sont très rares; pourtant j'ai réussi à en démontrer un avec certitude absolue; je n'ai pu trouver une membrane de séparation, mais l'appareil sexuel, les noyaux polaires et les antipodes furent bien reconnaissables et présents en nombre double.

Ces phénomènes d'ailleurs ne sont pas rares. Je veux en citer quelques uns de la littérature sans viser à en donner une liste complète. Presque chaque recherche cytologique du dernier temps en fournit des exemples:

Mac Allister, dans les *Convallariacées*.

Bot. Gaz. LVIII (1914), p. 144.

D'Angremond, dans *Musa paradisiaca*.
Flora CVII (1914), p. 85.
Bernard, dans *Helosis guyanensis*.
Journ. d. Bot. XIV (1900) p. 75.
Le même, dans *Lilium candidum*.
Journ. d. Bot. XIV (1900), p. 178.
Ferguson, dans *Lilium longiflorum*.
Bot. Gaz. XLIII (1907), p. 418.
Geerts, dans *Oenothera Lamarckiana*.
Recueil d. trav. bot. néerl. V (1908), p. 144.
Guignard, dans *Capsella bursa pastoris* etc.
Ann. d. Sc. nat., Bot. VI, 13 (1882), p. 167 etc.
Kusano, dans *Gastrodia elata*.
Journ. Coll. Agricult. Imp. Univ. Tokyo VI n°. 1 (1915), p. 22.
Kuyper, dans *Theobroma Cacao*.
Recueil d. trav. bot. néerl. XI (1914), p. 38.
Lloyd, dans les *Rubiacées*.
Mem. Torrey Bot. Club VIII (1902) (v. Schmid).
Lundquist, dans *Pedicularis sceptrum carolinum*.
Zschr. f. Bot. VII (1915), p. 547.
Martin, dans *Medicago sativa*.
Bot. Gaz. LVIII (1914), p. 160.
Pace, dans *Calopogon pulchellus*.
Bot. Gaz. XLVIII (1909), p. 127, 131.
Schmid, dans *Pedicularis* specc.
Beih. Bot. Centralbl. XX, 1 (1906), p. 231, 269.
Stevens, dans *Fagopyrum esculentum*.
Bot. Gaz. LIII (1912), p. 297.
Strasburger, dans *Lamium maculatum*.
Angiosp. u. Gymnosp. (1879), p. 12.
Tischler, dans *Ananassa sativa*.
Jahrb. f. wiss. Bot. LII (1912), p. 31.

J'ai déjà mentionné des sacs embryonnaires à noyaux superflus (§ 6). Il y a encore des sacs embryonnaires, qui sont anormaux sous plusieurs rapports; non seulement par le nombre des noyaux mais encore par la distribution de ces noyaux dans

le sac embryonnaire, et par l'abondance du protoplasme, par la vacuolisation du protoplasme, ou bien par les formes torses ou allongées du nucelle. J'ai reproduit une des nombreuses variations dans la fig. 39 (pris sur un bouton de 5—6 mm.) où les antipodes seules semblent être normales, mais où l'on ne peut trouver aucune régularité pour le reste. De pareils sacs embryonnaires paraissent être incapables de se développer davantage: on les retrouve quelquefois avortants dans les jeunes fruits.

Ceci me ramène au sujet de la stérilité. Ailleurs [1]) j'ai déjà donné mes observations faites sur la plante vivante, et naturellement je n'ai pas manqué, au cours de mes recherches cytologiques, de fixer mon attention spécialement sur ces problèmes là. D'autant plus que M. Cavara passe sous silence ces mêmes questions.

J'ai pu constater avec certitude que la désorganisation de tant d'ovules n'est pas causée par un manque de pollinisation, mais que c'est presque entièrement une question de prédisposition, qui se manifeste déjà dans les toutes premières phases du bouton. Car nous ne voyons pas dans la fleur fraîchement éclose quatre ovules pourvus de sacs embryonnaires dans chacune des loges du gynécée, lesquels peuvent se développer en fruit, si la fleur est bien pollinisée; mais nous trouvons très peu de sacs embryonnaires réguliers et le plus souvent ceux-ci sont fécondés par des insectes, même sans qu'on effectue artificiellement la pollinisation.

Une autre question est de savoir expliquer cette „prédisposition", et une autre encore est celle de savoir l'améliorer par des changements dans les circonstances extérieures. Pour ce qui est de l'explication, on ne se trompera pas beaucoup si l'on admet que presque tous les ovules à cellules mères doubles périssent. La preuve en est fournie par le fait que tous les sacs embryonnaires mûrs (les exceptions en sont très sporadiques!) possèdent

---

1) Dans ma publication détaillée citée plus haut.

un nombre simple de noyaux, et que ces sacs-là seuls forment des graines normales.

Ainsi que j'ai mentionné ci-dessus, il y a à cette règle des exceptions rares. S'il était possible qu'un sac embryonnaire à nombre double de noyaux fût fécondé par deux tubes polliniques, on obtiendrait deux embryons dans un seul sac embryonnaire, c.-à-d. un cas de polyembryonie. Voilà mon explication du cas dessiné par M. Cavara, lequel j'ai reproduit dans la fig. 43: deux embryons se tenant enlacés. Je n'ai pas trouvé moi même cette image cytologique, mais M. le docteur Bernard et moi nous avons bien trouvé dans le service du contrôle des graines une graine mûre renfermant deux embryons (fig. 44); bien que tous deux n'eussent formé dans l'étroit espace qu'un seul cotylédon bien développé et l'autre fort petit, c'est pourtant une preuve décisive qu'un ovule à deux embryons peut devenir une graine mûre. Il n'est plus possible de décider comment il faut expliquer le cas de M. Cavara et le nôtre (celui de M. C. fait penser à une oosphère avec une synergide qui se sont développées).

Le nombre des ovules à deux cellules mères est en tout cas considérable, du moins dans la race n° 1 (les autres races examinées offraient le même phénomène et je me suis contenté de cette constatation qualitative). J'ai trouvé dans un ovaire triloculaire 14 ovules dont 6 cellules mères simples, 6 avec les cellules doubles et 2 avec les cellules triples. Dans un autre il y avait sur 11 ovules 5 cellules mères simples, 4 cellules doubles et 2 cellules triples. Dans le premier cas il y avait par conséquent 42°/₀, dans le second 45°/₀ d'ovules irréguliers. Dans les autres ovaires ce pourcentage était souvent beaucoup moindre, il est vrai, mais on peut conclure des données que le nombre n'en est pas négligeable. Il est bien frappant que les premiers symptômes de dégénération se manifestent après la synapsis. L'image qu'on trouve dans la fig. 40 est alors très fréquente et l'on voit que dans ce cas il n'est pas possible de décider si c'est une phase primordiale ou synaptique ou bien une phase de division ou de dyades. Ce n'est que par ci par

là (fig. 41) qu'on trouve deux noyaux dans la masse du protoplasme noir; mais alors encore on ne peut pas dire avec certitude, si c'est une cellule mère double ou bien une dyade simple qu'on voit périr.

De pareilles considérations s'appliquent aussi aux phases postérieures, et quand on trouve dans les ovaires fécondés des images comme on en trouve dans la fig. 42 (à remarquer le fort développement de l'épiderme comparé à celui des cellules centrales!), on peut constater seulement que la dégénération commence très tôt, peut être déjà dans une phase unicellulaire.

On saurait donc prédire dans un état très juvénile de l'ovule, s'il périra oui ou non. De même avec un peu d'expérience il est possible de voir dans l'ovaire mûr quels sacs embryonnaires ne pourront pas être fécondés. Il n'en reste qu'un, deux ou trois, quelquefois il n'en reste pas un seul, qui paraissent être normaux. En outre ces apparences-là sont trompeuses parfois, car quelques-uns de ces sacs embryonnaires, normaux en apparence, avorteront, et si en plus on tient compte des cas dans lesquels la pollinisation par les insectes est insuffisante ou ne se fait pas du tout, en en vient à conclure à mon avis que la grande proportion de fleurs stériles n'a rien d'étonnant.

Une preuve directe du fait que la stérilité des fleurs dans mes experiences ne devait pas être attribuée surtout à la pollinisation insuffisante, je la trouve dans mes recherches cytologiques de deux ovaires qui tombaient prématurément. L'un renfermait 15 ovules dont il n'y avait qu'un seul normal et l'autre 14 qui tous avaient avorté dans une des premières phases. Le premier avait pourtant des tubes polliniques dans le style, de sorte qu'il était bien pollinisé mais par une cause quelconque les tubes n'avaient pu pénétrer dans le sac embryonnaire normal en apparence.

Ensuite j'ai essayé de résoudre la question de savoir comment il se fait que l'autopollinisation n'effectue pas la fécondation et à cet effet j'ai fixé cinq ovaires 15 jours après autopollinisation artificielle; je pensai alors que la fécondation se fait 9—10 jours après la pollinisation croisée, de sorte qu'au

bout de 15 jours on doit pouvoir tirer ses conclusions. Malheureusement ce ne fut que trop tard que je m'aperçus que la fécondation ne se fait pas au bout de 10 jours mais bien plus tard. Le fait que je n'ai pu constater de fécondation dans ces ovaires-là ne prouve donc rien. Dans deux cas j'ai trouvé des tubes polliniques dans le style: l'une fois il y avait un sac embryonnaire avec des masses de protoplasme noir au micropyle; mais dans un des trois autres ovaires j'ai trouvé de pareilles masses noires. Aussi je doute que ce fût là un cas de fécondation. Après mon rétour aux Indes je recommencerai ces recherches.

J'ai aussi examiné la stérilité des boutons [1]) dans le cas de trois boutons qui étaient sur le point de tomber (race n° 1). Le premier se trouvait dans la phase primordiale (aussi bien pour les cellules mâles que pour les cellules femelles); partiellement les ovules avortaient déjà et les noyaux végétatifs étaient tous dans un état de repos ou de dégénération. Le deuxième bouton avait du pollen mûr desséché, tandis que les ovules avortaient tous dans la phase primordiale (un seul dans la phrase des tétrades). Le troisième avait du pollen mûr assez normal, tandis que les ovules moururent dans une phase primaire impossible à reconnaître, et que tous les tissus dégénéraient déjà fortement. Il est donc très probable que la stérilité des boutons est dûe à la dégénération des ovules ou bien qu'en tout cas il y a un certain rapport entre ces deux phénomènes. De nouveau la question se pose de savoir si l'on peut empêcher cette dégénération ou du moins y rémédier.

Quant à la stérilité des graines, j'ai essayé d'éclaircir la question par un examen provisoire de la race n° 2. Cette race encore présente des cas de cellules mères doubles ou triples et les ovaires examinés me montraient une très grande proportion centage d'ovules dégénérés très jeunes. A l'examen du fruit j'ai

---

1) Dans ma publication détaillée j'ai fait distinction entre 4 formes de stérilité: celle qui se manifeste par la mort prématurée des *boutons*, celle qui fait avorter les *ovaires* après la pollinisation, celle qui cause la mort des jeunes *fruits*, et enfin la stérilité des *semis*, qui se révèle par une germination défective.

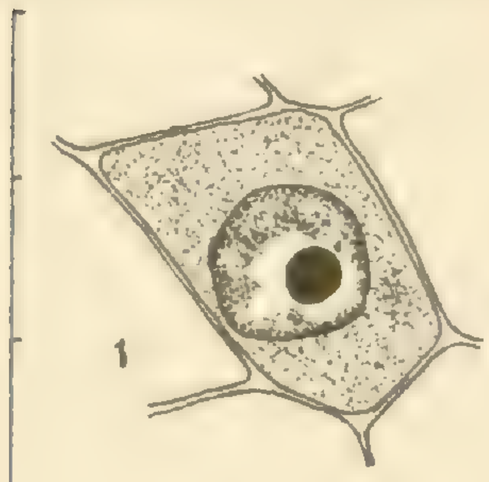
trouvé il est vrai de grands ovules fécondés depuis longtemps, mais ceux-ci avaient l'air d'être comprimés et je n'y ai pas trouvé d'albumen. Un examen plus exact décidera si c'était là un cas de parthénocarpie, ce qui me semble possible.

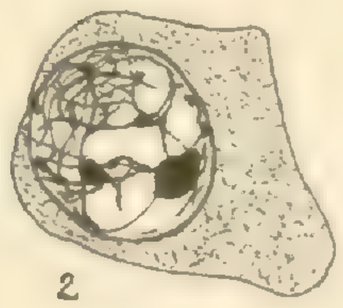
Dans la race n° 24 j'ai trouvé au cours d'un premier examen les mêmes phénomènes que dans la race n° 1 c.-à-d. beaucoup de cellules mères doubles. Dans les jeunes fruits j'ai trouvé un pareil cas (parthénocarpie?) que dans la race n° 2.

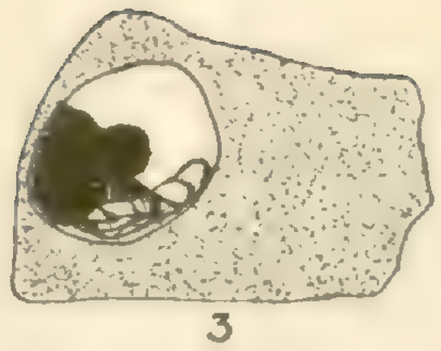
Dans la race chinoise que j'ai examinée, je n'ai pas trouvé de particularités du tout.

* *
*

De ce qui précède suit e. a. que la recherche cytologique, quant à la fécondation après auto-pollinisation et pollinisation croisée artificielles, doit se faire de nouveau, ce qui ne coûtera pas beaucoup de temps, maintenant que les principaux faits cytologiques et écologiques ont été fixés.

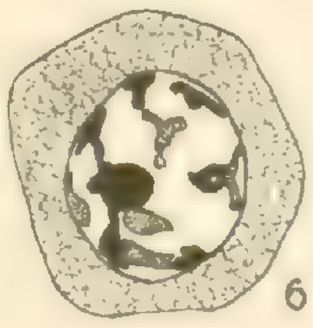

1

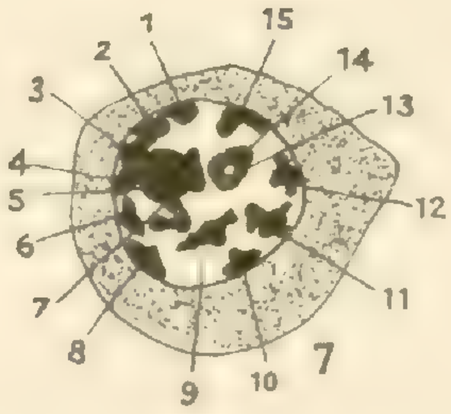

2


3

4

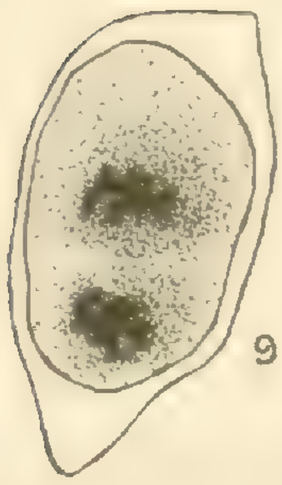
5


6



7

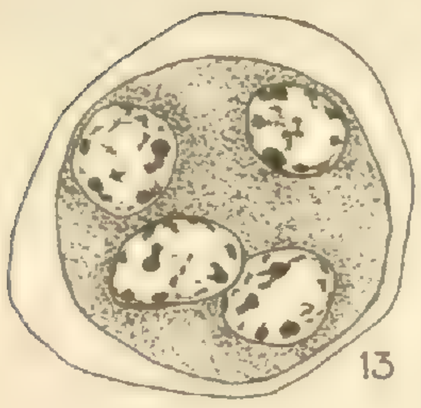
8

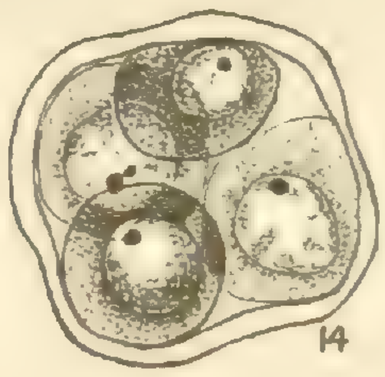

9

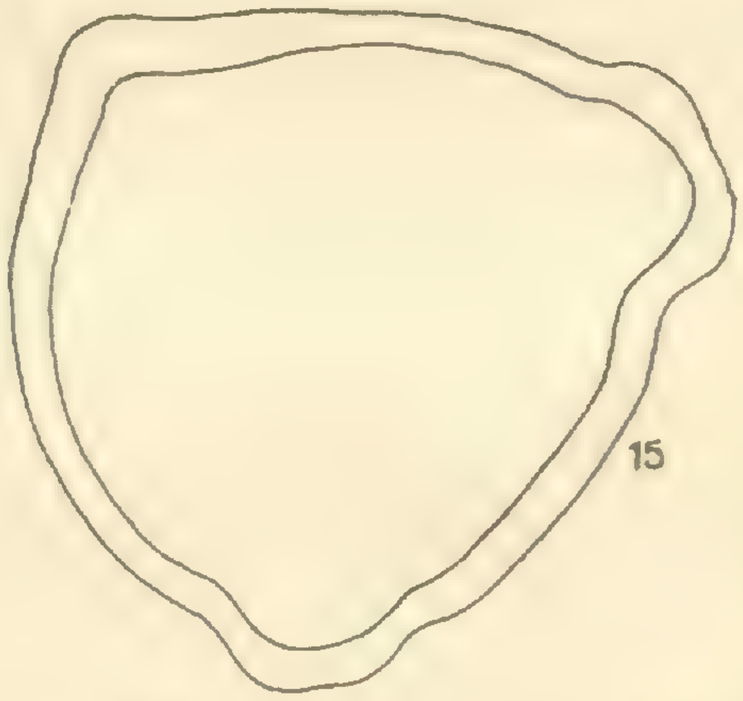
10

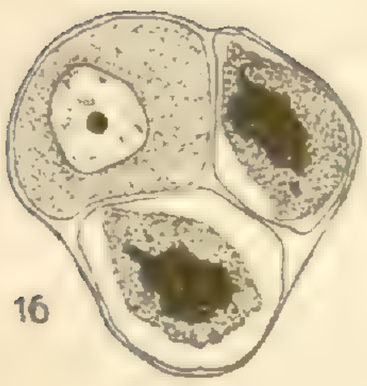
11

12

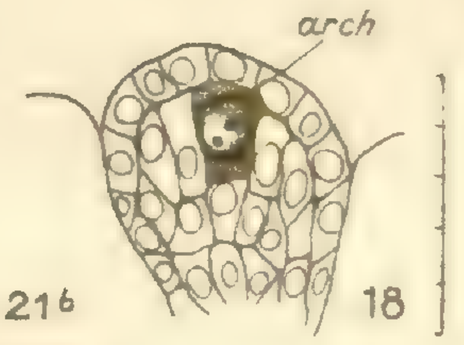

13


14

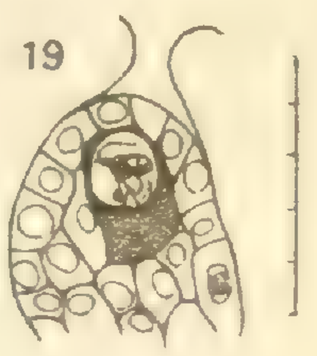

15

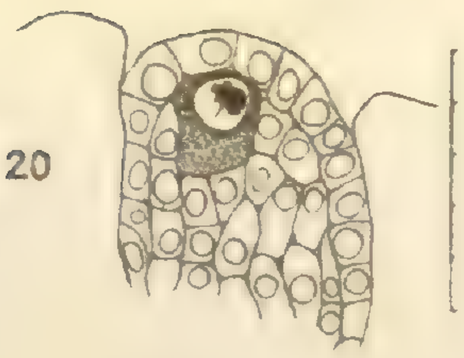

16

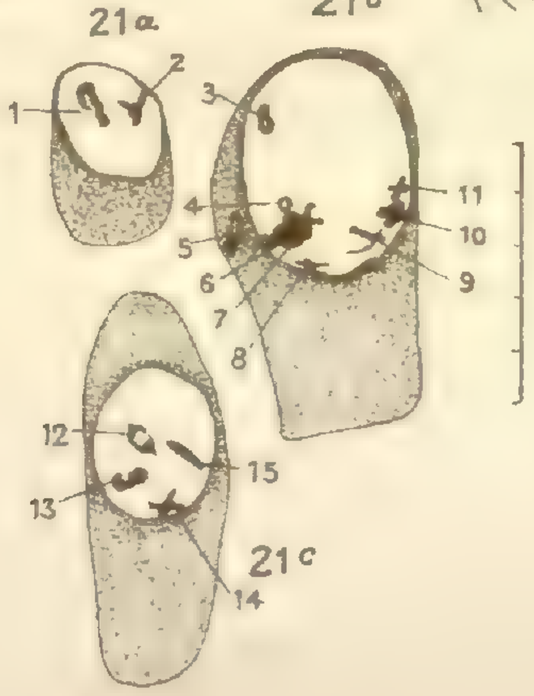
17

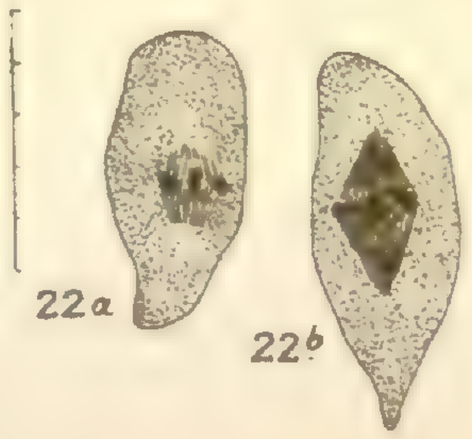


18

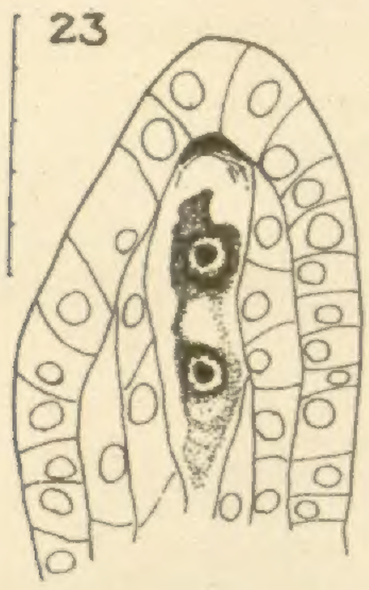

19


20

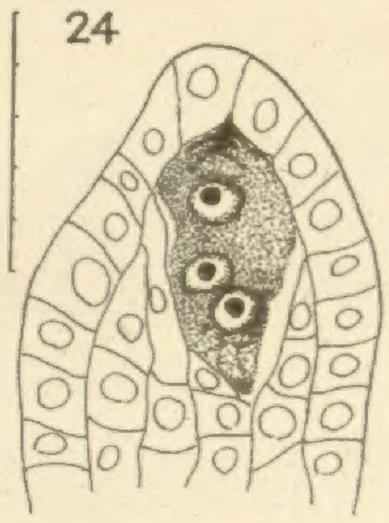




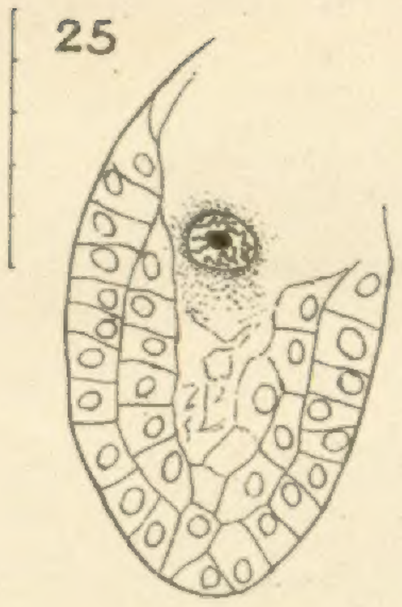
23



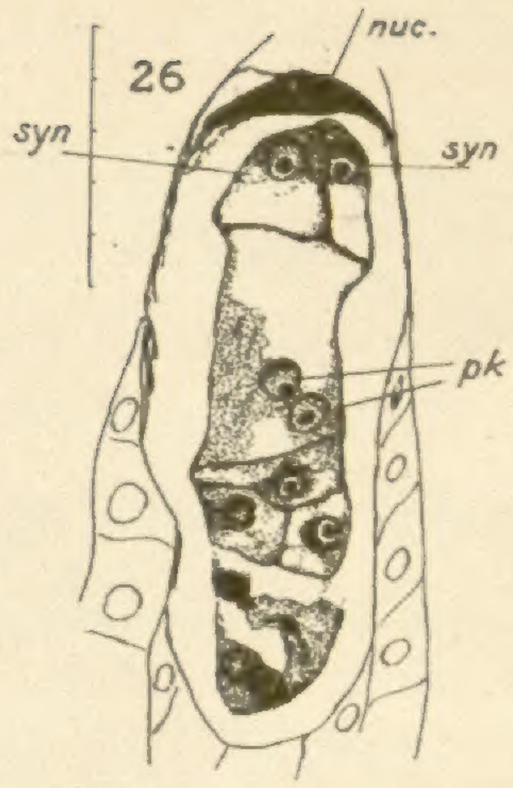
24



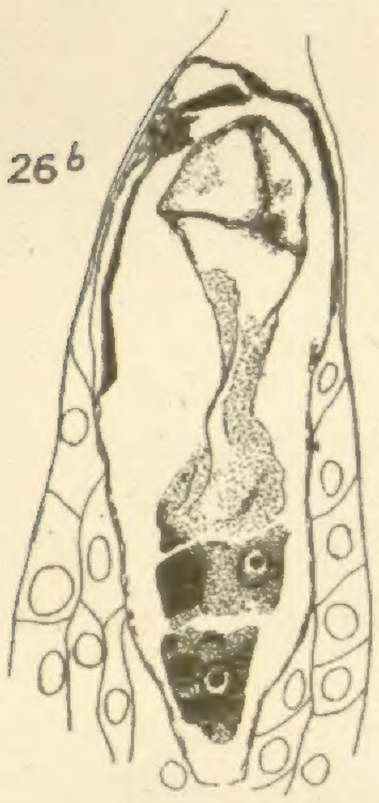
25



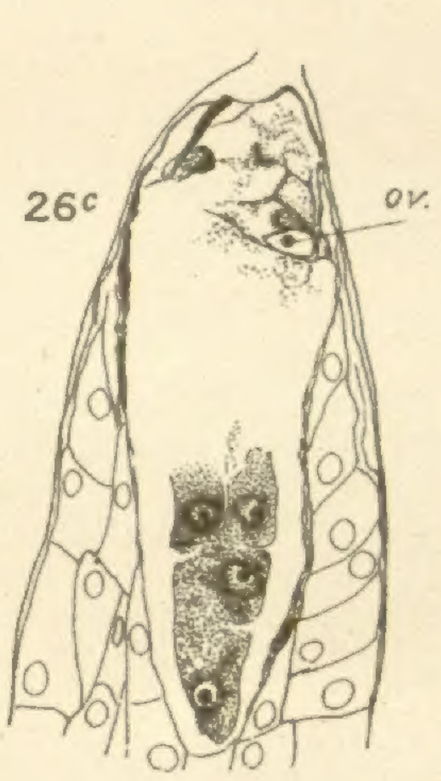
26



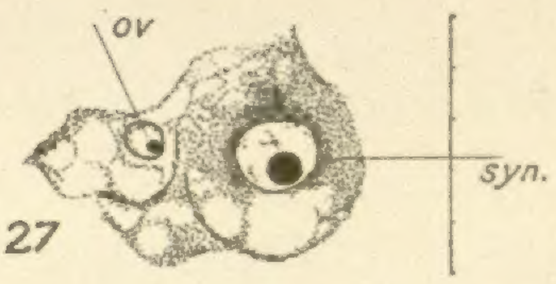
26b



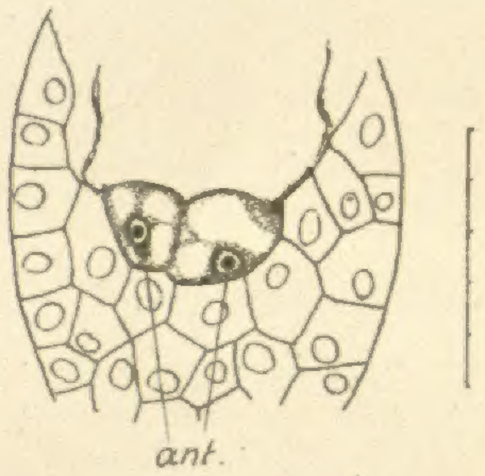
26c



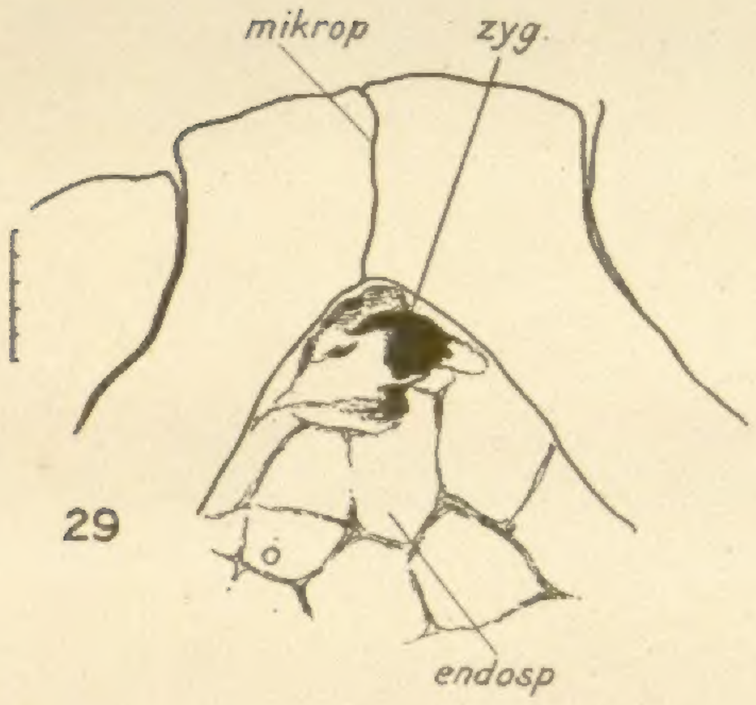
27



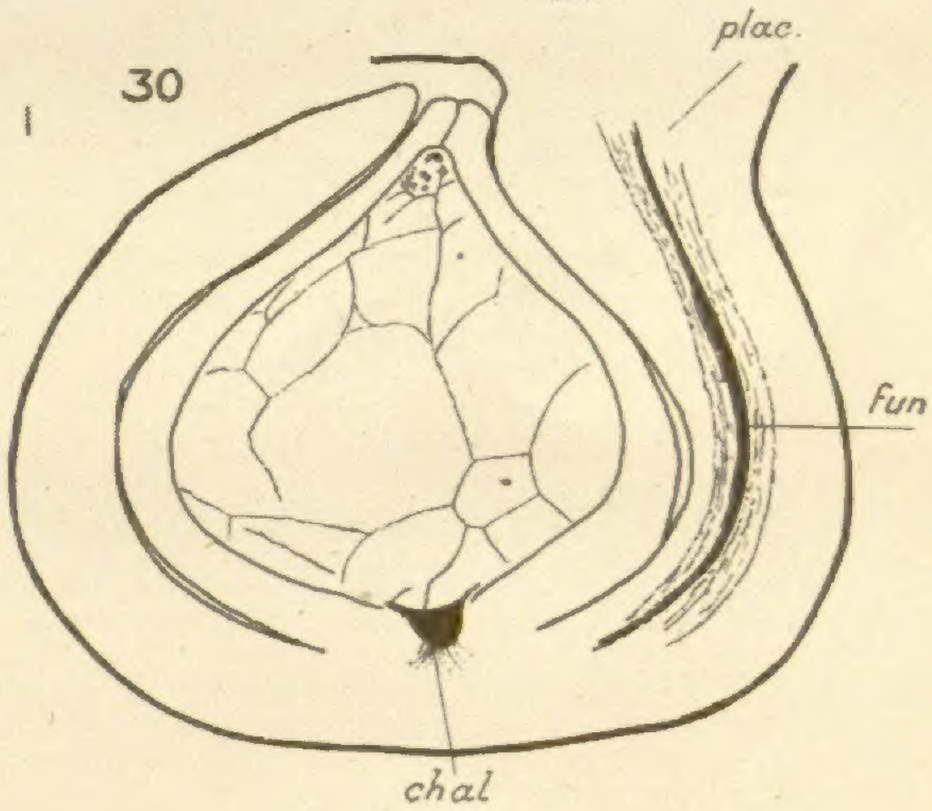
28



29

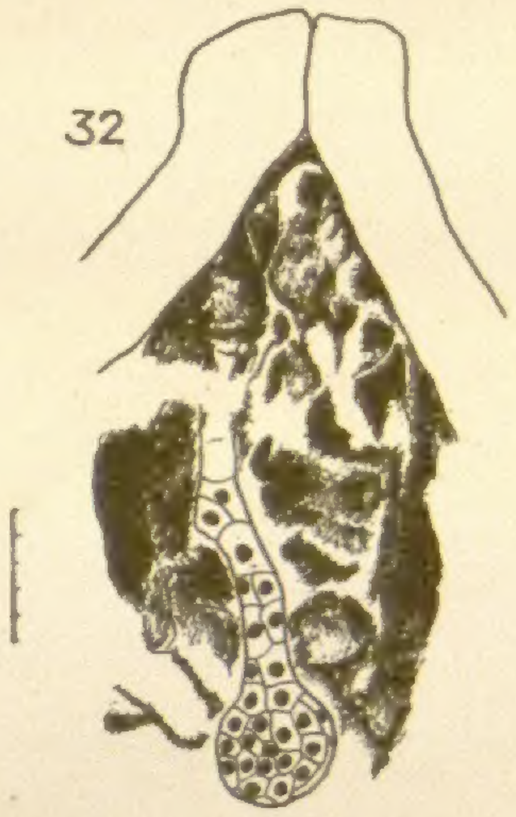


30



31

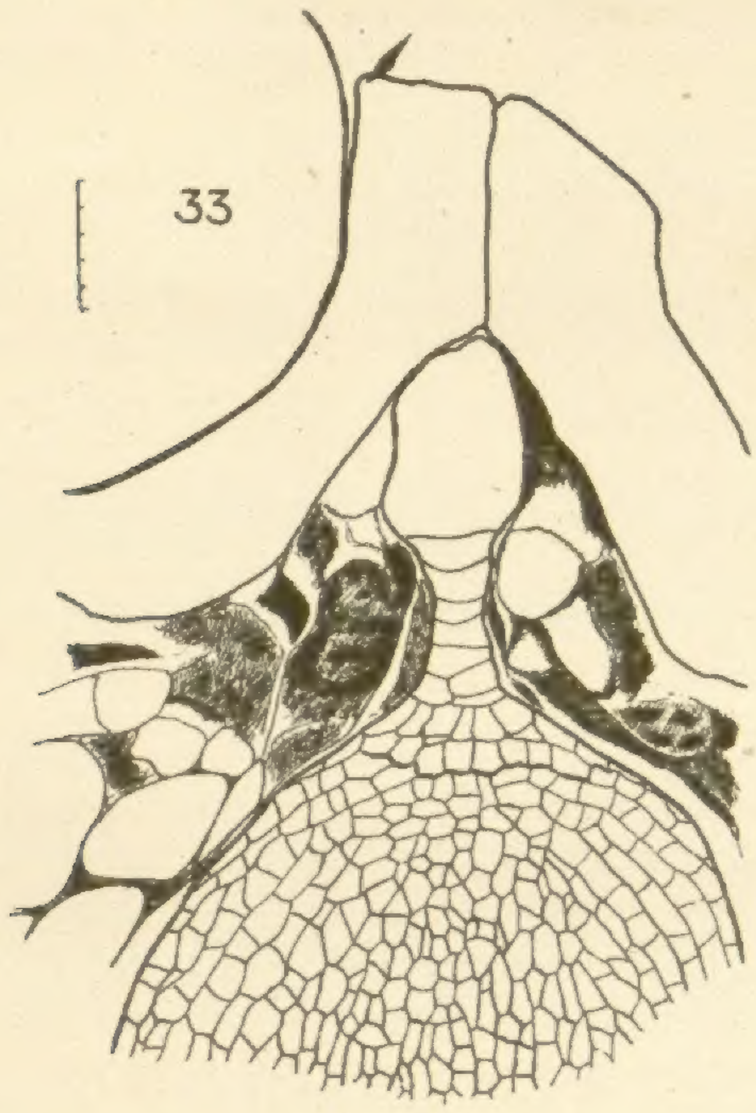
32



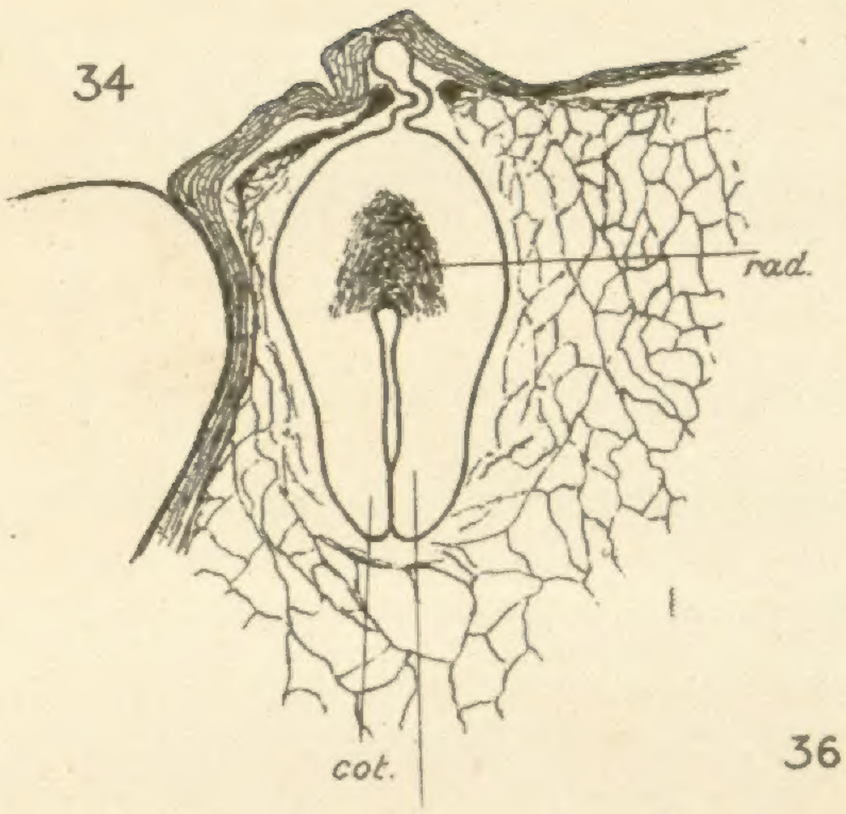
C. P. COHEN STUART DEL.

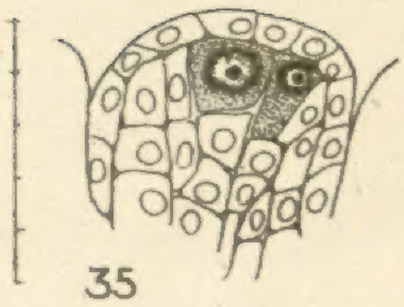
VAN LEER, AMSTERDAM.

33



34

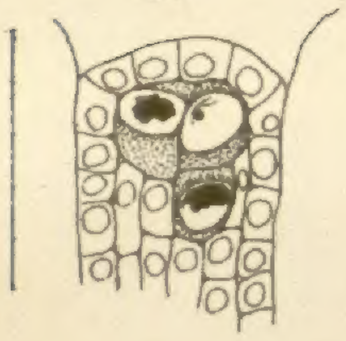




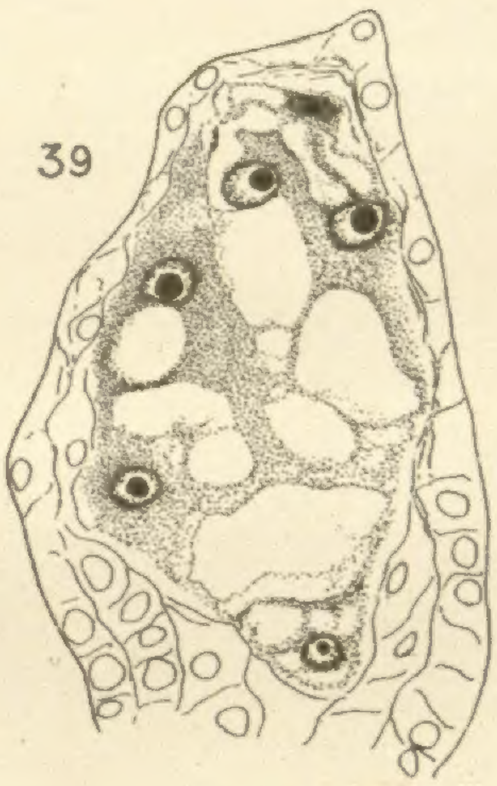
35

36

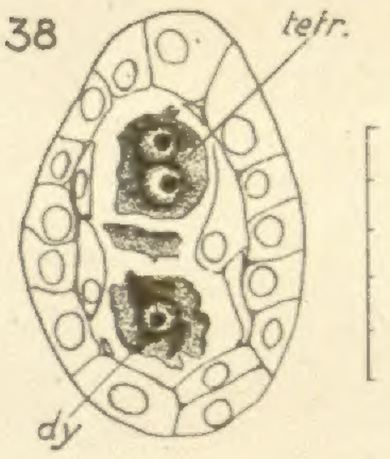
37



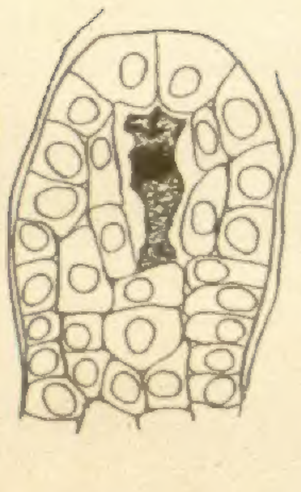
39



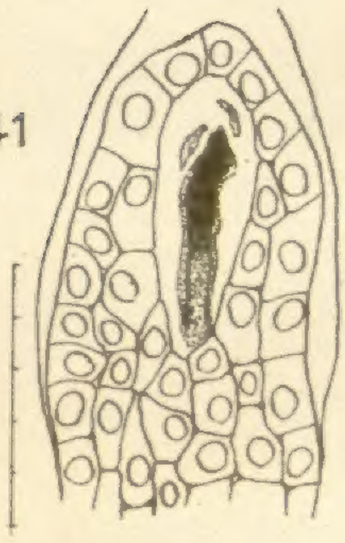
38



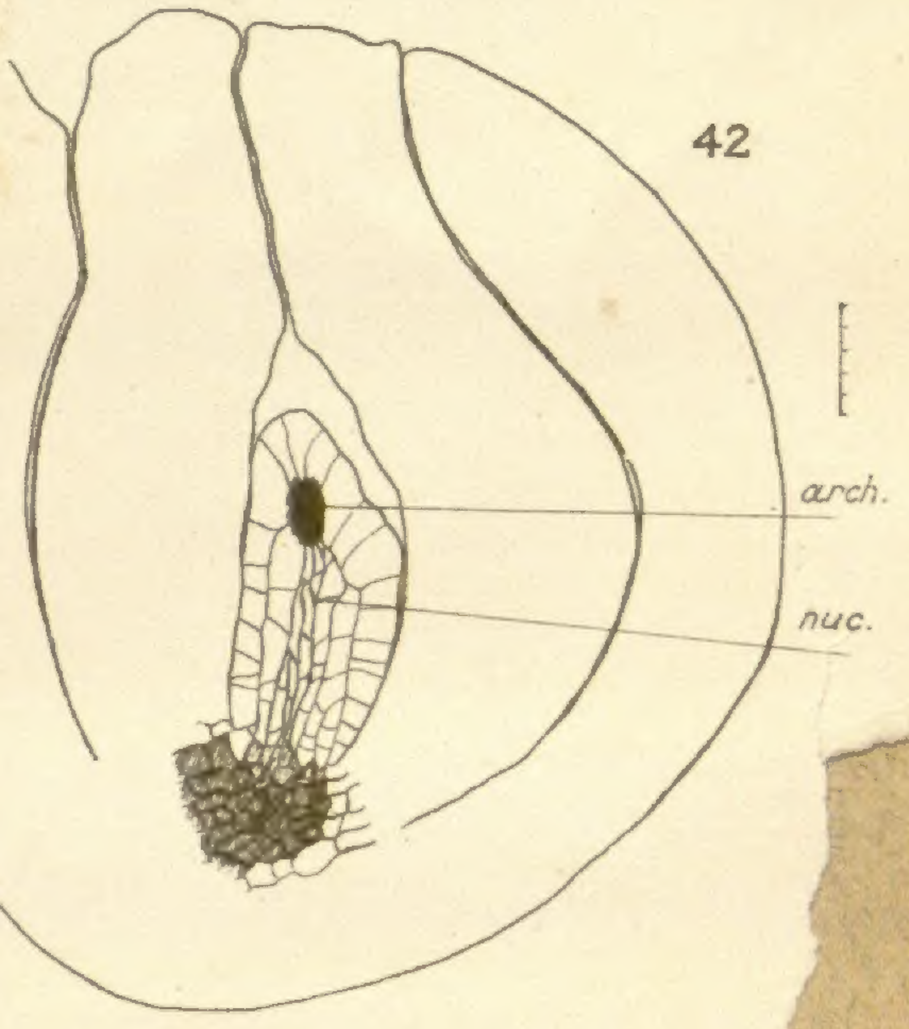
40



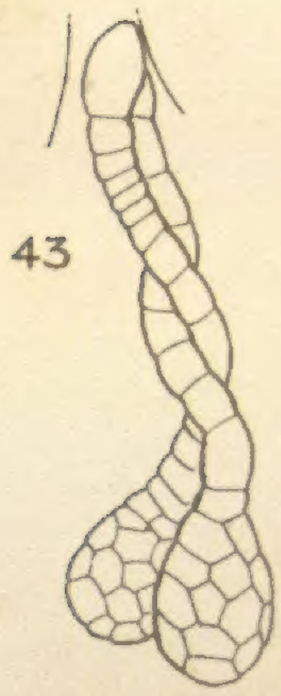
41



42



43



44a

44b

C. P. COHEN STUART DEL.

VAN LEE

Missouri Botanical Garden Library
3 1753 00220 8095

Nous sommes obligés, à cause de l'abondance des matières, de prier les auteurs de limiter à environ deux feuilles d'impression l'étendue des travaux qu'ils désirent publier dans les Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg. Dans des cas spéciaux la longueur des travaux pourrait être plus considérable, mais la Direction des Annales devrait alors prendre une décision à ce sujet.

En outre, nous serions heureux si les auteurs voulaient bien, avant que le manuscrit qu'ils destinent aux annales soit achevé, informer la Direction du sujet qu'ils traitent, de l'étendue du travail et du nombre des figures. Ceci afin que l'Editeur puisse être avisé dans le plus bref délai, et afin d'éviter tout retard inutile.

LA DIRECTION.

Die Menge des für die Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg zur Verfügung stehenden Stoffes zwingt uns zu der Bitte an die Herrn Verfasser, den Umfang ihrer für die Annalen bestimmten Arbeiten auf ungefähr zwei Druckbogen zu beschränken. In besonderen Fällen kann dieses Mass wohl überschritten werden, doch muss sich die Direktion die Entscheidung hierüber vorbehalten.

Die Verfasser würden uns zu Dank verpflichten, wenn sie der Redaktion schon vor der Fertigstellung ihrer für die Annalen bestimmten Aufsätze von dem Thema und dem Umfang der Arbeiten sowie der Anzahl der beizugebenden Abbildungen Mitteilung machen wollten, zu dem Zweck, die rascheste Benachrichtigung des Verlags und die Vermeidung jeder unnötigen Verzögerung zu ermöglichen.

DIE REDAKTION.

On account of the abundance of material we are obliged to request authors to limit the extent of the papers they wish to publish in the „Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg" to about two sheets in print. In special cases the length of the papers might be extended, but the Editors of the „Annales" would have the decision in such a case.

Moreover we should be thankful if authors who are preparing a paper for the „Annales", would kindly inform the Direction of the subject they are dealing with, at the same time mentioning the probable extent and number of figures, in order that the Publisher may receive notice as soon as possible and needless delay may be prevented.

THE EDITORS.

TABLE DES MATIÈRES.

Pag.

COHEN STUART (C. P.), Sur le développement des cellules génératrices de Camellia Theifera (Griff.) Dyer 1

IMPRIMERIE ci-devant E. J. BRILL. — LEIDE.